Methodik

der

klinischen

Blut-Untersuchungen.

Von

Prof. Dr. Ernst Grawitz,
dirig. Arzt am städtischen Krankenhaus in Charlottenburg.

Berlin 1899.

Verlag von Otto Enslin.

NW 6, Karlstrasse 32.

Vorwort.

Nach dem Erscheinen der „klinischen Pathologie des Blutes“ ist mir von verschiedensten Seiten wiederholt der Wunsch ausgesprochen worden, als Anhang zu diesem Werke eine zusammenfassende Übersicht über die Methoden der Blutuntersuchungen erscheinen zu lassen und damit eine Anweisung über den zweckmässigsten Gang derartiger Untersuchungen zu verbinden.

Diesen Wünschen bin ich mit dem vorliegenden Hefte nachgekommen, das keine Encyklopädie, sondern eine rationelle Auswahl der klinisch wichtigsten Blutuntersuchungs-Methoden darstellen soll und im wesentlichen aus den Erfahrungen heraus zusammengestellt ist, welche ich seit Jahren in praktischen Kursen gesammelt habe.

Gewisse komplizierte Apparate, z. B. zur Hämoglobinometrie, deren genaue Handhabung eine seitenlange Beschreibung erfordern würde, sind hier nur im Prinzip erläutert worden, da für ihre Anwendung in der Praxis von den Fabrikanten genaue Gebrauchsanweisungen beim Bezuge der Apparate mitgeliefert werden.

Charlottenburg, 7. Februar 1899.

Der Verfasser.



Inhaltsübersicht.

Seite

A. Die Zwecke klinischer Blutuntersuchungen und ihre Bedeutung für die allgemeine Pathologie 7

B. Die Entnahme des Blutes 11
   1. Kleine Blutstropfen 11
   2. Grössere Blutmengen 11
   3. Auffangen des Blutes 13

C. Die histologischen Untersuchungs-Methoden 14
   1. Frische Präparate 14
   2. Trockenpräparate 15
   3. Fixation 15
   4. Färbung 16
   5. Feinere histologische Untersuchungen 18

D. Die Untersuchungen auf Mikroorganismen 19
   1. Bakterien (Widalsche Reaktion) 20
   2. Malaria-Parasiten 20

E. Die physikalisch-chemischen Untersuchungs-Methoden . . 21
   1. Blutkörperchenzählungen 22
   2. Bestimmung des spez. Gewichts 24
   3. Bestimmung des Trockenrückstandes 25
   4. Bestimmung des Stickstoffgehaltes 26
   5. Hämoglobinometrie 26
   6. Untersuchungen am Serum 30
   7. Volumbestimmungen der roten Blutkörperchen 32
   8. Spektroskopie 34
   9. Blutkrystalle 36
   10. Alkalimetrie 36
   11. Resistenz der roten Blutzellen und osmotischer Druck 38
   12. Jodreaktion 39
   13. Fett-Nachweis 40



A. Die Zwecke klinischer Blutuntersuchungen und ihre Bedeutung für die allgemeine Pathologie.

Die Untersuchungen am Blute des Lebenden haben seit Alters ein besonderes Interesse für Physiologen und Kliniker gehabt, weil dieses flüssige, für die Erhaltung des ganzen Organismus so eminent wichtige Gewebe verhältnismässig leicht für Untersuchungszwecke gewonnen werden kann und weil man sich versprechen konnte, aus dem genauen Studium der Zusammensetzung gerade dieses Gewebes, welches an den vitalen Vorgängen aller Organe einen so innigen und wichtigen Anteil hat, Rückschlüsse auf den Stoffverbrauch des ganzen Organismus zumal in krankhaften Zuständen ziehen zu können.

Dieser Gedanke zeigt sich, wenn auch nicht direkt ausgesprochen, so doch in der Anordnung und Tendenz der Untersuchungen wie besonders in den hieraus gezogenen Schlussfolgerungen deutlich genug als Leitmotiv für die älteren — man darf wohl sagen „klassischen" Arbeiten von Becquerel und Rodier, von Nasse, C. A. Schmidt, Panum, Heidenhain u. A., welche bei ihren Untersuchungen in erster Linie die allgemeinen quantitativen Mischungsverhältnisse des Blutes in physiologischen Zuständen und sodann unter gewissen pathologischen Bedingungen, z. B. bei Nahrungsentziehung, bei manchen Krankheiten etc. studierten.

Daneben wurden schon in dieser älteren Periode durch die histologischen Untersuchungen von Virchow, Max Schultze u. A. die Hauptformen der farblosen Blutzellen festgestellt, es wurden die Lebensäusserungen dieser Zellen im physiologischen Experimente erforscht, kurz, der Grund zu unsern heutigen Kenntnissen von den zelligen Gebilden des Blutes gelegt.

Als dann später Ehrlich lehrte, durch zweckmässig kombinierte Farbstoffe die feineren histologischen Details der

Blutzellen mit grösserer Sicherheit als am frischen Präparate zu erkennen, wandte sich das Interesse der Untersuchungen so vorwiegend dieser histologischen Seite der Bluntuntersuchung zu, dass die Ermittelungen der allgemeinen Mischungsverhältnisse dagegen ganz in den Hintergrund traten.

Ebenso haben dann weiterhin die bakteriologischen Forschungen am Blute zumal im Gebiete der Infektionskrankheiten so stark prävaliert, dass die Kenntnisse über das Verhalten des Gesamtblutes in dieser Periode fast gar nicht gefördert worden sind, und wenn man manche umfangreiche Werke über das Verhalten des Blutes bei Infektionskrankheiten, selbst aus der neuesten Zeit durchliest, könnte man glauben, dass es nur die Leukocyten und Bakterien sind, deren Verhalten hierbei von Interesse ist.

Auch die Einführung gewisser exakter Untersuchungsapparate, wie besonders des Zählapparates, hat zwar infolge ihrer leichten Handhabung eine grosse Menge von Untersuchungs-Resultaten an die Öffentlichkeit gebracht, indessen beweisen die scheinbar exakten Zahlen, die hiermit gewonnen sind, an und für sich recht wenig für das Mischungsverhältnis des Gesamtblutes, und besonders die kritiklosen Mitteilungen von Zahlenverhältnissen der roten Blutkörperchen in Krankheiten, ohne Erläuterung des status praesens des Kranken zur Zeit der Untersuchung, haben uns eine Fülle von widersprechenden Angaben bei den einzelnen Krankheiten verschafft, aus denen es bei näherer Sichtung sehr schwierig ist, das Richtige herauszufinden.

Noch weniger segensreich haben sich die mit den älteren Hämoglobinometern gewonnenen Untersuchungs-Resultate erwiesen, da mit diesen, auf einfacher Farbvergleichung beruhenden und daher fehlerreichen Instrumenten Zahlenangaben gewonnen wurden, welche an und für sich unsicher waren, besonders aber dann zu ganz unrichtigen Schlüssen führten, wenn man sie in direkte Relation zu andern zahlenmässig ermittelten Werten, z. B. zur Zahl der roten Blutkörperchen, brachte, und manche irrige Angaben, wie z. B. von dem angeblich hohen Hb-Gehalt der Zellen bei perniciöser Anämie, pflanzen sich seit dieser Epoche von Buch zu Buch fort, obwohl diese falsche Angabe unserer ganzen heutigen Auffassung von den Vorgängen im Blute bei perniciöser Anämie direkt gegenübersteht.

Gegenüber den erwähnten Tendenzen, das Blut einseitig nach dieser oder jener Richtung hin zu explorieren, halte ich es für angezeigt, auf das Vorbild hinzuweisen, welches uns die älteren Autoren mit ihren vielseitigen Forschungs-Ergebnissen gegeben haben, aus denen wir heute noch, wenn auch mancher Teil ihrer Technik veraltet erscheint, ein klares Bild der Zusammensetzung

des Blutes in verschiedenen pathologischen Zuständen gewinnen können.

Die Bedeutung und der Zweck klinischer Blutuntersuchungen liegen auf einem viel weiteren Gebiete, als dem, welches die Erforschung der histologischen Elemente umfasst. Das Blut nimmt an allen krankhaften Vorgängen im Organismus den direktesten Anteil, und man soll daher bei Blutuntersuchungen am Kranken nicht die Veränderungen des Blutgewebes allein, sondern den Gesamtorganismus berücksichtigen, dessen krankhafte Veränderungen oft genug im Blute ihren deutlich messbaren Ausdruck finden.

Der gesteigerte Stoffzerfall äussert sich häufig in leicht erkennbarer Weise im Blute ebenso, wie vermehrter Stoffansatz in Änderungen der Blutzusammensetzung, doch würden uns diese Verhältnisse zumeist völlig unbekannt bleiben, wenn wir uns nur mit der Beschaffenheit und Zahl der Zellen beschäftigten, die bei der überwiegenden Mehrzahl der gewöhnlichen sekundären Anämieen morphologisch garnicht und quantitativ ganz unregelmässig verändert sind.

Wie ich an verschiedenen Stellen gezeigt habe, ist es bei vielen Anämieen im Gefolge von Krankheiten, Unterernährung etc. der Eiweissgehalt der Intercellularflüssigkeit des Blutes, welcher die ersten und wesentlichsten Verschlechterungen der Blutmischung anzeigt, und es ist daher dem Verhalten der Blutflüssigkeit bei allen Untersuchungen eine viel grössere Aufmerksamkeit zu widmen, als bisher im allgemeinen üblich war, wenn man die Aufgaben der Blutuntersuchungen nicht in den engen Rahmen isolierter histologischer oder bakteriologischer Forschungen fasst, sondern von dem weiteren Gesichtspunkte ausgeht, dass aus dem Blutbefunde ein Anhalt für den allgemeinen Stoffwechsel zu gewinnen ist.

Bei akuten, in ihren Erscheinungen wechselreichen Erkrankungen, besonders bei vielen Infektionskrankheiten ist es möglich, durch sorgfältige Blutuntersuchungen einen gewissen Ersatz für die hier nicht gut anwendbaren Stoffwechsel-Untersuchungen mit Bestimmung des eingeführten und ausgeschiedenen Stickstoffes zu gewinnen. Wir können z. B. die intensive protoplasmazerstörende Wirkung septiko-pyämischer Erkrankungen an der rapiden Eiweiss-Abnahme im Blute und speziell im Serum studieren, wir können die Einwirkung schwerer dysenterischer Darminfektionen auf den Organismus an dem Verhalten des Blutes erkennen, und bei richtiger Erwägung aller vorhandenen Erscheinungen lässt sich nicht

selten die Frage entscheiden, ob bei dieser oder jener Krankheit ein spezifisches Zellgift wirksam ist.

Für alle diese Fragen können die Ermittelungen des Verhältnisses von Blutzellen zur Blutflüssigkeit von grosser Wichtigkeit sein, und es verdienen daher diese Untersuchungen, welche z. B. bei C. A. Schmidt für das Cholerablut die wertvollsten Ergebnisse geliefert haben, zur Vervollständigung der allgemeinen Blut-Analyse die grösste Aufmerksamkeit.

Die Zusammensetzung des Blutes schwankt bekanntlich in ziemlich weiten physiologischen Grenzen, und es ist daher oft schwer zu sagen, ob zahlenmässige Werte, die bei einmaliger Untersuchung gewonnen sind, noch als gesundhafte anzusehen sind. Noch schwieriger ist es natürlich, aus grösseren Reihen solcher Einzelzahlen von verschiedenen Individuen Rückschlüsse auf den Charakter der in Frage stehenden Krankheit zu ziehen.

Ich habe daher seit langem die Anschauung vertreten, dass wir auf keinem Wege besser in die Natur der Blutveränderungen bei Krankheiten eindringen können, als wenn man bei einem und demselben Individuum fortlaufend zu verschiedenen Zeiten Blutuntersuchungen anstellt und aus der Vergleichung der einzelnen Werte unter sorgfältiger Berücksichtigung des jeweiligen Status des Patienten seine Schlüsse zieht.

Die starken Schwankungen, welche der Flüssigkeitsgehalt des Blutes z. B. durch übermässige Zufuhr oder längere Entziehung wasserreicher Nahrung, durch Temperatursteigerung, Schwitzen, profuse Sekretionen u. v. a. Momente erleiden kann, bringen es mit sich, dass einzelne morphologische Elemente, ebenso wie der Eiweissgehalt und selbst die Alkalescenz in der Raumeinheit eines untersuchten Bluttropfens Schwankungen unterliegen können, welche an sich gar nichts mit der Krankheit zu thun haben, sondern lediglich durch die physikalischen Veränderungen der Gesamtblutmasse bedingt sind. Diese Verhältnisse müssen auf das sorgfältigste berücksichtigt werden und können mit Sicherheit nur erkannt werden, wenn man die Konzentration des Blutes selbst und sein Verhältnis zum Serum ermittelt.

Will man die Veränderungen des Blutgewebes bei Krankheiten in zuverlässiger Weise studieren, so muss man nach dem Gesagten berücksichtigen:

1. Den status praesens des Kranken zur Zeit der Untersuchung.

2. Die Tageszeit, besonders auch in Rücksicht auf stattgehabte Nahrungsaufnahme.

3. Die Untersuchung frischer und gefärbter Präparate.

4. Die Ermittelung der Zahl der roten und der farblosen Zellen.

5. Die Bestimmung der Konzentration des ganzen Blutes.

6. Die Bestimmung der Konzentration des Serum.

7. Für manche Zwecke die Bestimmung der Volumverhältnisse zwischen Serum- und roter Blutkörperchensubstanz.

B. Die Entnahme des Blutes.

Zur Untersuchung für klinische Zwecke dienen:

1. **Kleine Blutströpfchen**, die man durch Einstich mittels einer scharfen Nadel oder Lanzette am besten in die Haut des mit Äther gereinigten Ohrzipfels gewinnt. Stiche in die Fingerbeere sind schmerzhafter, bei schwieligen Arbeiterhänden unverhältnismässig tief und können leichter zu einer Infektion führen.

Besondere Instrumente zum Einstich mit Reguliervorrichtung zur Abmessung der Tiefe des Stiches sind erfunden, scheinen mir aber unnötig.

2. **Grössere Mengen von einigen Dezigramm Blut** und mehr zu quantitativen Bestimmungen der Bestandteile des Blutes.

Bei ihrer Gewinnung muss auf das sorgsamste darauf geachtet werden, dass nicht durch Druck oder Quetschung der Wunde oder durch Stauung der Venenstämme Aenderungen der Blutmischung künstlich hervorgerufen werden, das Blut muss vielmehr möglichst frei und schnell ausfliessen. Dies erreicht man:

a) Durch ausgiebige Schnitte in die Haut, die, wenn sie flach sind, vorzugsweise kapillares Blut liefern, während tiefere Incisionen in die Subcutis meist ein mehr dunkles, venöses Blut ergeben. Selbst bei ziemlich grossen Schnitten ist es schwer, ohne zu drücken, mehr als 1 ccm Blut aus der Haut zu erhalten.

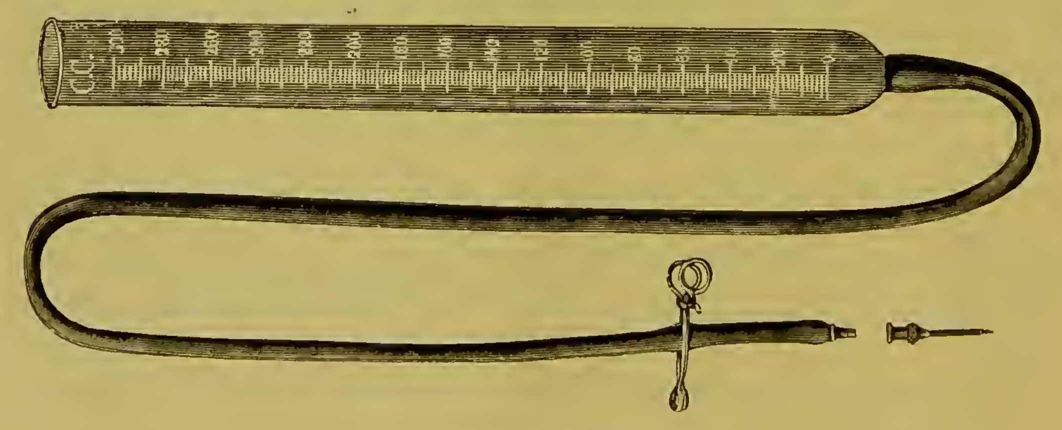
b) Durch Punktion einer oberflächlichen Vene, am besten am Vorderarm. Hierzu benutzt man scharfe metallene Kanülen, welche durch trockene Hitze sterilisiert werden. Der Venenstamm wird durch leichte Digitalkompression zum Anschwellen gebracht und nach Desinfektion der Haut die möglichst scharfe Kanüle in die Vene der Längsrichtung nach mehr eingeschoben als eingestochen, worauf das Blut in schneller Tropfenfolge hervorquillt und in beliebigen Gefässen aufgefangen werden kann.

Die ersten Tropfen Blut, welche infolge der Stauung alteriert sein können (Zuntz), lässt man am besten unbenutzt.



Venenpunktion.

Zweckmässig benutzt man Punktionskanülen, wie ich sie seit Jahren anfertigen lasse,*) welche ein metallenes Ansatzstück für Befestigung eines Irrigatorschlauches haben. Man kann die Kanülen dann auch zu Transfusionen benutzen, indem man zuerst die Kanüle in die Vene einführt und die richtige Ausführung durch das Austropfen des Blutes kontrolliert, alsdann das Ansatzstück des mit dem Transfusionsmaterial gefüllten Irrigators in die Kanüle einführt und nach Lösung der Schlauchklemme die Flüssigkeit einströmen lässt.



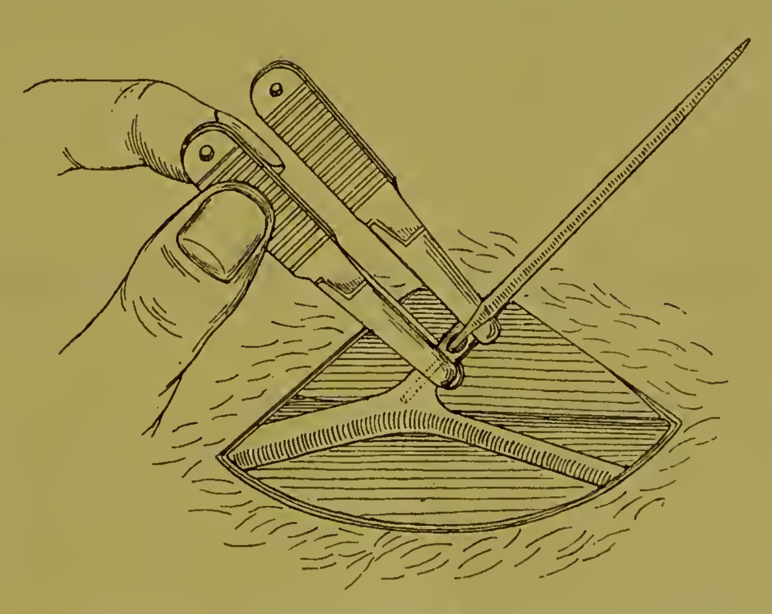
Punktionsapparat.

*) Beim Instrumentenmacher Engmann, Charitéstrasse Berlin.

Ebenso lässt sich ein Aderlass sehr bequem mit diesen Kanülen ausführen, nur thut man gut, um die Reibung an den Innenflächen der Kanüle und damit eine vorzeitige Koagulation innerhalb derselben zu verhüten, die Innenfläche durch Einölung mittels eines passenden Stopfens zu glätten. Es lassen sich dann mit nicht zu engen Kanülen leicht 200 ccm Blut aus der Vene entleeren.

c) Bei Tierexperimenten muss man, wenn es sich um die Gewinnung nicht zu kleiner Quantitäten Blut handelt, sorgfältig jede venöse Stauung vermeiden. Man kann bei Kaninchen das Blut während des Experimentierens aus der Carotis entnehmen, die zu diesem Zwecke frei präpariert mit passenden Klemmen oder Schlingen versehen und zwischen letzteren angeschnitten wird. Immer liegt hier bei mehrmaligem Öffnen und Schliessen der Arterie die Gefahr eines störenden, stärkeren Blutverlustes vor.

Sehr leicht und ohne Stauung sowie Blutverlust kann man fortgesetzt Blut aus einer Vene entnehmen, wenn man z. B. die Theilungsstelle der Jugularis beim Hund oder Kaninchen frei präpariert, den einen Ast und Hauptstamm des Gefässes frei lässt und den anderen Ast dicht über der Bifurkation öffnet und abklemmt. Man kann dann leicht nach Öffnung der Klemme von diesem Seitenaste her ein Röhrchen in den Hauptstamm einführen und beliebig oft ungestautes Venenblut entnehmen.



Blutentnahme aus der vena jugularis beim Thier.

d) Grössere Quantitäten Blut kann man beim Menschen auch durch Schröpfen erlangen. Das Vacuum des Schröpfkopfes saugt indes neben dem Blut stets unkontrollierbare und je nach der Saugkraft verschiedene Quantitäten Gewebssaft aus der Haut (E. Grawitz), und das so gewonnene Blut ist daher zu quantitativen Analysen nicht mit Sicherheit zu verwenden.

Dagegen lässt sich bei sicherer Sterilisation der Instrumente und Desinfektion der Haut das Schröpfblut sehr gut zu bakteriologischen Zwecken verwerten.

e) Leichenblut ist weder für Bestimmungen der Konzentrationsverhältnisse noch für bakteriologische Untersuchungen zu verwenden.

3. Zum Auffangen des Blutes dienen ausser den für spezielle Zwecke konstruierten Pipetten z. B. des Zählapparates:

a) Wiegeschälchen verschiedener Grösse mit luftdicht schliessendem Stöpsel.

b) Glasröhrchen von der Form der Lymphröhrchen, jedoch weniger bauchig, sondern mehr cylindrisch, mit spitz zulaufenden zugeschmolzenen Enden.*)

Glasröhrchen. (1/2 der natürl. Grösse.)

Diese Röhrchen lassen sich für alle möglichen Zwecke benutzen, z. B. bei der Bestimmung des spez. Gewichtes, zur Übertragung von Blutstropfen auf flüssige Medien, zur Gewinnung kleiner Mengen von Serum, zum sterilen Auffangen und Konservieren von Blut, wobei nach Füllung des Gläschens die Enden zugeschmolzen werden.

c) Centrifugiergläschen mit oder ohne Graduierung.

d) Standgefässe von cylindrischer Form zum Auffangen grösserer Mengen Blut.

e) Kleine Gefässe nach Biernacki zur spontanen Blutsedimentirung (s. u.).

C. Die histologischen Untersuchungs-Methoden.

1. Frische Präparate. Wie bei mikroskopischen Untersuchungen aller Gewebe muss auch beim Blute rationellerweise zuerst das frische ungehärtete und ungefärbte Präparat betrachtet werden. So leicht das Material dazu zu gewinnen ist, so muss doch eine Reihe von Vorsichtsmassregeln bei der Herstellung des frischen Blutpräparates beobachtet werden.

a) Es müssen spiegelblanke, am besten mit Alkohol oder Äther gereinigte Deck- und Objektgläser benutzt werden.

---

*) Angefertigt durch Paul Altmann, Berlin, Luisenstr. 52.

b) Die Finger dürfen beim Anfassen des Deckgläschens nicht feucht sein, da letzteres sonst beschlägt und eventuell Alterationen der Zellen auftreten (Ehrlich); man benutzt daher mit Vorteil Pincetten zum Abheben des Blutströpfchens.

c) Der Blutstropfen muss unmittelbar nach dem Hervorquellen und ohne Berührung der Haut an seiner Kuppe mit dem Deckgläschen abgehoben und schnell auf das Objektglas gelegt werden.

d) Bei richtiger Ausführung verteilt sich sofort das Blut kreisförmig in feinster kapillärer Schicht zwischen den beiden Gläschen, sodass besonders im Zentrum alle Zellen einzeln neben einander liegen und nur nach der Peripherie zu Verklebungen in Geldrollenform eintreten.

Auf diese Weise ist es möglich, die einzelnen Zellen wirklich isoliert betrachten zu können, verklumpte Präparate sind besonders für das Studium der roten Zellen unbrauchbar.

e) Jeder Druck oder seitliche Verschiebung des Deckgläschens ist zu vermeiden, da hierdurch irritierende Kunstprodukte geschaffen werden.

Von Arnold ist empfohlen worden, das frische Blutströpfchen mit feinsten Hollundermarkblättchen aufzufangen und die Zellen in den Maschen des Hollundermarkes zu studieren.

Für gewisse Zweke (Studium von Blutparasiten, amöboider Bewegung der Leukocyten etc.) ist die Beobachtung des frischen Bluttropfens am erwärmten Objekttisch, oder besser im erwärmten Kasten notwendig. Ein empfehlenswertes Modell bietet der von Nuttall angegebene Apparat.

2. **Trockenpräparate** werden derartig hergestellt, dass das Blut in feinster Schicht auf den Deckgläschen verteilt wird. Zu diesem Zwecke fasst man zwei Deckgläschen an den Ecken am besten mit breit endenden Pincetten, hebt mit dem einen Gläschen die Kuppe des Tropfens ab, lässt dasselbe auf das zweite fallen, worauf sich der Tropfen, falls die Gläser spiegelblank waren, schnell in kapillarer Schicht verteilt, und zieht danach ohne Druck oder Quetschung genau horizontal mit einer schnellen Bewegung beide Gläschen voneinander.

Weniger empfehlenswert scheint mir die Methode, den Blutstropfen an einer Kante des Deckgläschens aufzufangen und mit letzterem schnell über ein zweites Gläschen hinzufahren.

Zur weiteren Behandlung müssen die Präparate an der Luft trocknen, was bei richtiger, d. h. in feinster Schicht erfolgter Ausbreitung des Blutes in wenig Minuten vollendet ist.

3. **Die Fixation des lufttrockenen Präparates** kann nach der älteren Ehrlichschen Vorschrift auf einer erwärmten Kupferplatte geschehen.

Sicherer geschieht sie im Wärmeschrank, und es eignen sich

hierzu die Blechkästen für trockene Sterilisation, wie sie in jedem Laboratorium vorhanden sind, sehr gut. Man stellt die Temperatur auf 110—120° C. ein und lässt die Präparate $^1/_2$—2 Stunden in dem Wärmekasten.

Schneller und für die meisten Farbmischungen völlig ausreichend geschieht die Fixation in absolutem Alkohol, in dem sie ca. fünf Minuten bleiben müssen. Auch Äther sowie Alkohol und Aether zu gleichen Teilen können benutzt werden.

Andere Fixationsmittel, wie Pikrinsäure- und Sublimatlösungen bedingen leicht störende Farbstoffniederschläge beim Färben, auch wenn sie gut abgewaschen sind.

4. Die Färbung der Blutpräparate geschieht fast ausschliesslich nach vorhergegangener Fixation.

Man kann für gewisse Zwecke auch das einfach an der Luft getrocknete Präparat mit solchen färbenden Stoffen behandeln, welche das Hämoglobin nicht lösen, z. B. mit Jod-Jodkaliumlösung, wodurch das Hämoglobin bräunlich, die Kerne hellgelb, das Protoplasma der Leukocyten gar nicht gefärbt werden und z. B. kernhaltige rote Blutkörperchen leicht erkannt werden.

Frisches, d. h. nicht getrocknetes Blut nimmt ebenso wie das im Körper cirkulierende Blut keinen Farbstoff an.

Zur Färbung des Blutes dienen:

1. Lösungen saurer Farbstoffe.
2. Lösungen basischer Farbstoffe.
3. Farbmischungen saurer und basischer Stoffe, welche nach den von Ehrlich entwickelten Prinzipien in verschiedener Kombination für die verschiedenen Zwecke der Färbung angewandt werden.

a) Saure Farbstoffe färben im Blute die roten Blutkörperchen und die Granulationen der eosinophilen (oxyphilen) Leukocyten. Von diesen Farbstoffen kommen vorzugsweise in Betracht:

Eosin, in Lösung von 0,75 : 100 ccm 75 % Alkohol oder in wässeriger Lösung mit Glycerinzusatz.
Säurefuchsin.
Orange-G.
Indulin.
Nigrosin.

b) Basische Farbstoffe färben vorzugsweise die Kernsubstanzen sowohl der roten wie der weissen Zellen. (Das Nukleïn der Zellkerne verhält sich nach Lilienfeld-Posner wie eine Säure und zieht daher die basischen Stoffe an.) Ferner färbt sich das Zellprotoplasma gewisser einkerniger Leukocyten in dieser Weise — basophile Zellen. Die wichtigsten Farbstoffe sind

Methylgrün. Fuchsin.
Methylenblau. Methylviolett.
Amethystviolett. Bismarckbraun.

Alle diese Farbstoffe können in wässeriger oder alkoholischer Lösung

zur Anwendung kommen, doch hat ihre isolierte Verwendung für Blutfärbungen nur geringe praktische Bedeutung.

c) Am wichtigsten sind die verschiedenen Farbmischungen für die histologischen Studien am Blute.*)

In sehr einfacher Weise und verhältnismässig schnell lässt sich eine kombinierte Färbung mit Eosin und Methylenblau derartig erzielen, dass man auf das in Alkohol fixierte Präparat, welches man mit einer Klemmpincette fasst, zuerst für ca. zwei Minuten die 0,75 % Eosinlösung einwirken lässt, abspült und darauf für eine ganz kurze Frist mit einer Methylenblaulösung nachfärbt, sodass das Präparat makroskopisch violett gefärbt erscheint.

Für schnelle Orientierung erhält man durch diese, in wenig Minuten auszuführende Färbung genügend gute Bilder.

Schöner wirken dieselben Farbstoffe als sog. Chenzynsky'sche Lösung:

Konz. wässerige Methylenblaulösung	40 ccm
½ % Eosinlösung in 70 % Alkohol .	20 „
Glycerin	20 „
Aqu. destillata	20 „

Doch erfordert die Färbung 12—24 Stunden und die Lösung zersetzt sich sehr leicht, sodass trotz jedesmaliger Filtration vor dem Gebrauche Misserfolge häufig sind.

Die schönsten Färbungen liefern diese selben Farbstoffe in der neuerdings nach dem Vergange von Romanowski durch Ziemann ermittelten Kombination:

eine 1 % Lösung von Methylenblau med. pur. (Höchst) und
eine 0,1 % Lösung von Eosin (Marke BA oder AG, Höchst)

werden im Verhältnis von 1 : 5 oder 1 : 6 sorgfältig gemischt, das Deckgläschen in einem Glasblock mit konkavem Boden mit der Präparatenseite nach unten gelegt, mit der Mischung übergossen und ca. 20 Minuten gefärbt. Vor der Herausnahme wird ein etwa gebildetes Häutchen von der Oberfläche der Mischung mit Fliesspapier entfernt, da sonst Farbstoffniederschläge entstehen.

Die Präparate zeigen die roten Zellen und die eosinophilen Granulationen schön rot, die Kerne blau und etwaige chromative Kernteile in einem karminähnlichen Farbenton.

Mischungen von Eosin und Hämatoxylin geben besonders ausgezeichnete Kernfärbungen, während die neutrophilen Zellgranulationen nicht spezifisch gefärbt werden; besonders empfehlenswert ist die Ehrlichsche Lösung:

---

*) Über den Chemismus dieser Farbstoff-Mischungen s. das betr. Kapitel in Ehrlich und Lazarus. Die Anämie. Wien, 1898.

Eosin (cryst.)	0,5
Hämatoxylin	2,0
Alkohol absol.	
Aqu. destill.	
Glycerin āā	100,0
Acid. acet. glacial.	10,0
Alaun im Überschuss.	

Färbung während $^1/_2$—2 Stunden.

Zur Darstellung von Präparaten, in welchen die verschiedenen Zellbestandteile in vortrefflicher Weise distinkt gefärbt erscheinen, eignen sich besonders die Ehrlichschen Triacidmischungen, zu deren Darstellung Ehrlich folgende Mischung angiebt:

13—14 ccm Orange G-Lösung,
6—7 „ Säure-Fuchsinlösung,
15 „ Aqu. destill.,
15 „ Alkohol,
12,5 „ Methylgrün,
10 „ Alkohol,
10 „ Glycerin.

Die drei Farbstoffe werden in gesättigter wässeriger Lösung angewandt und durch längeres Stehenlassen geklärt. In der vorgeschriebenen Reihenfolge werden die Stoffe in einem und demselben Messglase abgemessen und gründlich durchgeschüttelt.

Die Mischung hält sich gut und färbt schon in 5—15 Minuten.

Wer die immerhin diffizile Bereitung dieser u. a. Lösungen scheut, kann dieselben fertig von der Grüblerschen Fabrik in Leipzig beziehen.

Zur Färbung der Blutplättchen empfiehlt Rabl (Wiener med. Wochenschrift 1896, S. 46) folgendes Verfahren:

Das lufttrockene Präparat wird in physiol. Kochsalzlösung, die mit Sublimat gesättigt ist, $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde fixiert, in destilliertem Wasser gewaschen und für $^1/_2$ Stunde in eine Beize gebracht, die aus einer 1,5 % Eisenalaunlösung oder aus Liquor ferri sulf. oxydat. mit gleichen Teilen Wasser oder aus Liquor ferri sesquichlor mit der Hälfte Wasser verdünnt besteht. Dann wird das Präparat für $^1/_2$—1 Stunde in frische gesättigte Hämatoxylin-Lösung und nochmals in stark verdünnte Beize gebracht.

Die roten Blutkörperchen sind dann entfärbt, die weissen und die Blutplättchen dunkelschwarzblau.

5. **Für feinere histologische Untersuchungen**, besonders für das Studium der Kernteilungen, kann man das Blut in möglichst frischem Zustande fixieren, indem man das Deckglas-Abzugspräparat in Flemming'sches Chromosmiumsäuregemisch oder in konzentrierte Sublimatlösung einlegt.

Zweckmässiger ist die Biondische Schnittmethode:

Einige Blutstropfen werden frisch hervorquellend in 5 ccm einer

2 % Osmiumsäurelösung aufgefangen und durch Umschütteln verteilt. Nach 24 Stunden werden einige Tropfen des Blutosmiumgemisches mit der Pipette auf eine Agarlösung übertragen, welche bei 35—37° C. verflüssigt wird. Hierin wird das Blutosmiumgemisch verteilt, das Ganze in Kästchen ausgegossen, mehrmals in 85 % Alkohol gehärtet, geschnitten und gefärbt.

Weniger umständlich ist die Schnittmethode nach P. Grawitz: Ein oder mehrere grosse Tropfen Blut lässt man direkt aus dem Ohrzipfel in ein untergehaltenes Gläschen mit Flemming-scher Lösung fallen, worin sich die Tropfen sogleich fest zusammenballen. Nach 24 Stunden werden die Coagula mehrere Stunden lang in fliessendem Wasser gewaschen, dann in Alkohol gehärtet, darauf in Paraffin eingebettet, geschnitten und in der gewöhnlichen Weise gefärbt, ausgewaschen, in Alkohol und darauf in Xylol übertragen und schliesslich in Kanadabalsam eingedeckt.

Besonders laukämliches Blut hat mir mit dieser Methode sehr schöne Resultate gegeben. Als kernfärbendes Mittel ist Saffranin in wässeriger Lösung empfehlenswert. Der Chromatingehalt der Kerne, Mitosen etc. sind an feinen derartigen Schnitten vortrefflich zu studieren.

D. Die Untersuchungen auf Mikroorganismen.

1. **Der Nachweis von Bakterien** kann nur in seltenen Fällen, z. B. wenn es sich um Milzbrandbazillen-Infektion oder um Recurrens-Spirillen handelt, in frischen Blutpräparaten geführt werden.

Auch fixierte Trockenpräparate, welche mit bakterienfärbenden Farbstoffen, wie Methylenblau, Fuchsin etc. behandelt sind, geben selten eindeutige Befunde. Bakterien können hierbei leicht durch kleine Zerfallskörperchen im Blute vorgetäuscht werden, welche, wenn sie aus Kernsubstanz bestehen, ebenso wie die Bakterien Affinität zu basischen Farbstoffen haben. Am ehesten kann es gelingen, gewisse charakteristische Bakterienformen, wie den Diplococcus Pneumoniae durch einfache Färbung nachzuweisen, einzelne Kokken dagegen und auch kleine Stäbchen sind schon oft fälschlich aus den erwähnten Partikelchen diagnostiziert worden und haben zu zahlreichen Irrtümern Veranlassung gegeben.

Es muss deshalb für exakte Untersuchungen die Übertragung von nicht zu kleinen Blutquantitäten auf tote oder lebende Nährmedien gefordert werden.

Zu diesem Zwecke eignen sich ganz besonders Venenpunktionen, bei denen man das Blut direkt auf die unter die Kanüle gehaltenen Gläschen oder Schalen mit Agar, Bouillon etc. tropfen

lässt, so dass eine Verunreinigung durch Keime der Luft, der Haut oder der Instrumente nahezu ausgeschlossen ist.

Zur subkutanen oder intraperitonealen Injektion auf Tiere setzt man an die eingestochene Kanüle eine sterile Injektionsspritze und injiciert deren Inhalt unmittelbar nach dem Ansaugen des Blutes in die Spritze.

Legt man Gewicht auf Gewinnung des Blutes aus dem Kapillargebiet, so kann man unter allen Kautelen der Sterilisation den Schröpfapparat anwenden. Ich verwende hierfür anstatt des Schröpfschneppers eine leicht zu sterilisierende Lanzette, mit der ich die Haut in einem kleinen Umkreis stichele, so dass kleine Blutströpfchen hervortreten, worauf in der bekannten Weise ein steriles Gläschen als Sauger aufgesetzt wird.

Immer wird man berücksichtigen müssen, dass die Haut nach aller Erfahrung äusserst schwierig sicher steril zu machen ist.

Leichenblut kann für den Nachweis des Vorhandenseins von Bakterien im cirkulierenden Blute nicht herangezogen werden, da in der Agone Bakterien z. B. aus dem Darminhalte (Bact. coli cummune) in das Blut übertreten können, die mit der Krankheit des betroffenen Individuums gar nichts zu thun haben.

Die Widalsche Reaktion:

Das Serum des Blutes Typhuskranker besitzt die eigentümliche Eigenschaft, Typhusbacillen in ihrer Beweglichkeit zu hemmen und gruppenweise zusammentreten zu lassen — zu agglutinieren (Gruber).

Diese Erscheinung ist von Widal für klinische Zwecke nutzbar gemacht worden, und das Verfahren ist dabei folgendes: Von einer kleinen Quantität Blut des zu untersuchenden Patienten werden durch Gerinnenlassen oder Centrifugieren einige Tropfen Serum gewonnen, und zwar empfehlen sich auch für diese Zwecke Kapillarröhrchen nicht zu kleinen Kalibers, deren Enden man nach genügender Abscheidung von Serum abbricht, worauf das Koagulum bei horizontal gehaltenem Röhrchen nach der einen Seite herausgezogen wird, sodass das Serum allein in dem Röhrchen zurückbleibt.

Zu einem Tropfen Serum setzt man mittels einer Pipette eine Anzahl von Tropfen einer frischen, d. h. 6—10 Stunden alten Typhusbacillen-Kultur, vermischt beides gehörig und untersucht eine Platinöse voll der Mischung in einem hohlgeschliffenen Objektträger als hängenden Tropfen.

Die Reaktion gilt als positiv, wenn die Agglutination und Immobilisierung der Typhusbacillen bei einer Mischung von einem Tropfen Serum zu 30 Tropfen Typhusbouillon eintritt.

2. **Für den Nachweis von Malariaparasiten** kommt in erster Linie die Untersuchung des frischen, sorgfältig (s. o.) präparierten Blutstropfens in betracht. Besonders beachtenswert sind die endoglobulären pigmentierten Parasiten, welche auch bei geringer Übung schwer mit Kunstprodukten verwechselt werden können. Schwieriger sind die kleinen unpigmentierten Formen zu erkennen, besonders muss man sich hüten, Kontraktilitätserschei-

nungen an den roten Blutkörperchen (sog. Vakuolenbildungen) für Parasiten zu halten.

Sehr zweckmässig und für biologische Studien der Parasiten unentbehrlich ist die Beobachtung in der erwärmten Kammer, wo die Bewegung des ganzen Parasiten und die endocellulären Pigmentbewegungen fortgesetzt zu verfolgen sind. Es sei jedoch ausdrücklich darauf hingewiesen, dass diese Bewegungen wenigstens einige Zeitlang auch am gewöhnlichen, nicht erwärmten Präparate zu beobachten sind.

Erfahrungsgemäss erfordert das Auffinden von Malariaamöben, besonders bei den milden Fiebern unserer Gegenden, und wenn die Erkrankung noch frischen Datums ist, viel Geduld und Zeit.

Die Färbung der Malariaparasiten wird fast ausschliesslich durch Methylenblau bewirkt.

Zur Fixation der Trockenpräparate genügt absol. Alkohol während fünf Minuten.

Die Färbung geschieht mit Methylenblau in wässeriger Lösung oder besser mit Löfflerschem Methylenblau isoliert, wobei die roten Blutkörperchen grün und die Parasiten blau erscheinen.

Schöner wird der Kontrast, wenn man zweizeitig mit Eosin und Methylenblau oder mit der Chenzynskischen Lösung (s. o.) färbt.

Am meisten Beachtung verdient jedoch die Ziemannsche Färbung, mittels deren in den sich entwickelnden Parasiten Chromatinsubstanzen mit einem Karminfarbenton gefärbt werden, während der Parasit im übrigen blau, die roten Blutkörperchen rot erscheinen.

E. Die physikalisch-chemischen Untersuchungsmethoden.

I. Die Blutkörperchenzählungen.

Zur Zählung der Zellen des Blutes kommen heute vorzugsweise die nach den Prinzipien von Thoma-Zeiss konstruierten Apparate in Frage (s. S. 22).

Zunächst muss das Blut mit einer für die Zellen indifferenten Flüssigkeit verdünnt werden. Hierzu dient die sog. physiologische Kochsalzlösung, d. h. 0,7 NaCl : 100 Aqu. dest. oder die Pacinische Flüssigkeit:

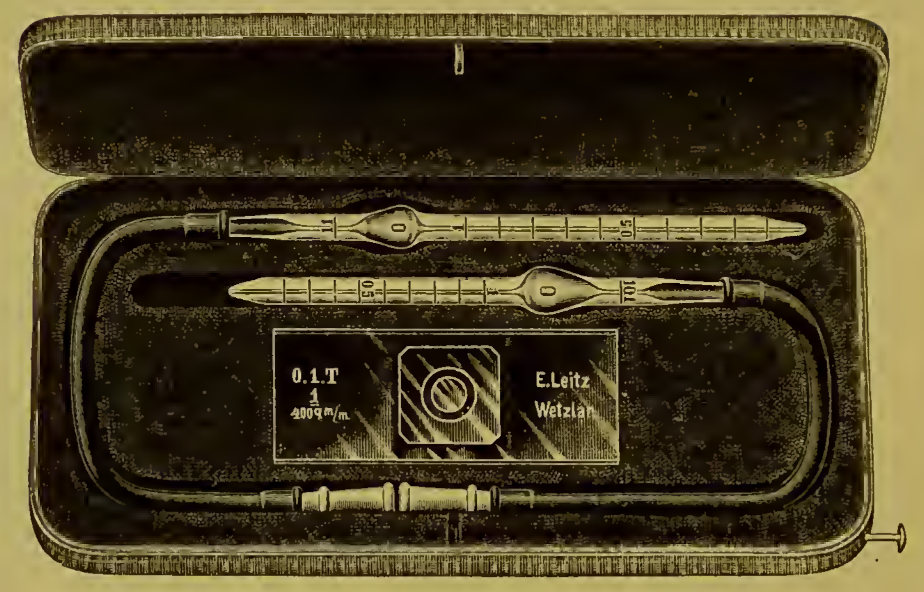
Hydrarg. bichlor.	2,0
Natr. chlorat.	4,0
Glycerin	26,0
Aqu. destill.	226,0

oder die Hayemsche Flüssigkeit:

Hydrarg. bichlor.	0,5
Natr. sulfuric.	5,0
Natr. chlorat.	1,0
Aqu. destill.	200,0

Die Toissonsche Flüssigkeit:

Aqu. dest.	160 ccm
Neutral. Glycerin	30 ,,
Natriumsulphat.	8 g
Natr. chlorat.	1 g
Methylviolett	0,025 g



Zählapparat für rote und weisse Blutkörperchen.

Diese dient gleichzeitig zur Verteilung der roten und zur leichteren Erkennung der weissen Blutkörperchen, die violett gefärbt erscheinen, doch kann man dasselbe in einfacherer Weise erreichen, wenn man zur physiologischen Kochsalzlösung (s. o.) etwas wässerige Methylviolettlösung hinzusetzt und vor dem Gebrauch filtriert.

a) **Zur Zählung der roten Zellen** lässt man nach Einstich in die Haut einen grossen Tropfen Blut heraustreten und saugt in die Mischpipette bis zur Marke 0,5 oder 1 Blut auf, entfernt mit dem Finger (nicht mit Fliesspapier) etwaiges Blut von dem Ende der Mischpipette und saugt darauf von der Mischungsflüssigkeit bis zur Marke 101. Wichtig ist, dass die Blutsäule in dem kapillaren Ende der Mischpipette kontinuierlich angesaugt wird und keine Luftbläschen enthält, letztere dürfen auch beim Ansaugen mit der Mischungsflüssigkeit nicht auftreten. Durch leichtes Schütteln

während dieses letztgenannten Aktes muss das Blut durch Bewegung des Glaskügelchens in der Ampulle gut verteilt werden.

Nach richtiger Füllung und Mischung des Blutes in diesem Apparate wird zunächst eine kleine Menge Flüssigkeit ausgeblasen und sodann ein Tropfen von mittlerer Grösse auf die innere Zählplatte gebracht, welche in einem genau berechneten Abstande unter dem Niveau des breiten äusseren Rahmens liegt. Über den letzteren wird nunmehr das dicke Deckgläschen gelegt, welches bei richtiger Ausführung so fest auf dem Glasrahmen liegen muss, dass die Newtonschen Farbringe erscheinen.

Die Zählkammer wird darauf mit ihrer Mitte unter dem Mikroskop eingestellt (Zeiss, Objektiv DD, Leitz, Nr. 6), sodass das Fadenkreuz und die auf demselben liegenden Blutzellen deutlich zu erkennen sind. Jedes der grossen Quadrate bildet den 4000. Teil eines Kubikmillimeters, man zählt am besten Gruppen von 16 Quadraten hintereinander durch, notiert die gefundene Zahl und nimmt den Durchschnitt von mehreren solchen Zählungen.

Hat man das Blut bis zur Marke 1 aufgesogen, also auf 1 : 100 verdünnt, so ist die Berechnung:

$$\frac{x \cdot 100 \cdot 4000}{16},$$

hat man bis 0,5 aufgesogen, so muss mit 200 multipliziert werden.

Eine gewisse Übung und grosse Exaktheit in der Ausführung aller Einzelheiten sind unbedingtes Erfordernis zur Erlangung richtiger Zahlenwerte.

Die normale Zahl der r. Bl. im Kubikmillimeter beträgt:

5 Millionen beim Mann,
4,5 „ „ Weibe.

b) Zur Zählung der Leukocyten kann dieselbe Mischpipette und Zählkammer wie für die roten Blutkörperchen benutzt werden. Als Mischungsflüssigkeit dient die Toissonsche Mischung oder 0,7 °/₀ NaCl-Lösung mit Methylviolett (s. o.). Man kann hiermit hintereinander mit derselben Kammerfüllung die roten und weissen Zellen zählen. Wegen der Spärlichkeit der letzteren empfiehlt es sich, grössere Reihen von Quadraten zu durchzählen oder bei bestimmter Okulareinstellung und bestimmtem Objektiv den Inhalt des Gesichtsfeldes an Quadraten zu berechnen und die Leukocyten gesichtsfeldweise zu zählen, worauf bei der Berechnung des Resultates der Inhalt des Gesichtsfeldkreises als Divisor zu nehmen ist.

Zweckmässiger ist es, besondere Mischpipetten für die Leukocytenzählung zu gebrauchen, bei welchen das Blut weniger stark verdünnt wird und daher in der Raumeinheit grössere Mengen

von Leukocyten gezählt werden können (s. Abbildung). Man benutzt hierzu Pipetten, welche auf eine Verdünnung von 1 : 10 oder 1 : 20 abgemessen sind und benutzt als Mischungsflüssigkeit eine 0,3 % Essigsäurelösung, in welcher die roten Blutkörperchen aufgelöst werden, so dass die weissen leicht erkennbar und zählbar werden.

Die normale Zahl der Leukocyten im Kubikmillimeter beträgt 5000—10 000.

Von Zappert und Elzholz sind Zählkammern mit neunmal grösserer Gradeinteilung als beim Zeissschen Apparate angegeben, um eine exakte Durchzählung grösserer Mengen von Leukocyten zu ermöglichen.

Die Zählung der einzelnen Leukocytenarten und die Berechnung ihrer Verhältniszahlen geschieht am ausgestrichenen und gefärbten Präparate unter Benutzung eines verschiebbaren Objekttisches, der durch Gradeinteilung eine genaue Berechnung des untersuchten Quadrates ermöglicht. Derartige Apparate werden von den Firmen Zeiss und Leitz geliefert.

Zur isolierten Zählung der eosinophilen Zellen empfiehlt Zappert, zu einer Menge von 5 ccm frischer 1 % Osmiumsäurelösung 4—5 Tropfen einer Mischung von: Aqu. dest.
Glycerin aa: 10,0.
1 % wässeriger Eosinlösung 5,0
hinzuzusetzen, durchzuschütteln und als Mischungsflüssigkeit für den Zählapparat zu benutzen. Die schnelle Härtung und Färbung der Leukocyten lässt dann die eosinophilen Zellen mit roter Granulation deutlich in der Zählkammer hervortreten.

2. Die Bestimmung des spec. Gewichtes des Blutes.

Die Ermittelung des spez. Gewichtes des Blutes bildet seit langem die sicherste und leichtest auszuführende Methode der Bestimmung der Konzentration des Blutes.

1. An grossen Quantitäten defibrinierten Blutes (Aderlass) wird die Dichte einfach durch Einsenken eines Aräometers bestimmt, oder durch Abwägen eines bestimmten Volumen Blut in einem Glase bei bestimmter Temperatur, nachdem zuvor das Gewicht desselben Volumen destillierten Wassers bei derselben Temperatur bestimmt ist (ältere Methode von Becquerel und Rodier u. a.).

2. An kleinen Quantitäten Blut:

a) Die Methode von Schmaltz mittels Kapillarpyknometer: Ein Glasröhrchen (nach Art der Lymphröhrchen) mit offenen, sorgfältig abgeglätteten Enden wird leer, dann mit destilliertem Wasser bei 15° C. gewogen und das Wassergewicht notiert. Nachdem das Röhrchen getrocknet ist, wird es mit Blut (aus Hautschnitt oder Punktionskanüle, s. o.) gefüllt, sauber abgewischt und gewogen. Das absolute Blutgewicht durch das Wassergewicht dividiert, giebt das spez. Gewicht.

Die Röhrchen dürfen nicht unter 0,2 g Blut fassen, die Abwägung muss auf einer guten chemischen Wage geschehen, die auf $^1/_{10}$ Milligramm genau wiegt.

Bei einiger Übung leistet die Methode vorzügliches, speziell empfiehlt sie sich für Experimente im Laboratorium.

b) Die Methode von Hammerschlag: Durch Mischung von Chloroform (spez. Gew. 1,485) und Benzol (spez. Gew. 0,88) wird in einem cylindrischen Standgefäss eine Flüssigkeit vom spez. Gewichte von ca. 1,050 hergestellt und durch Eintauchen eines Normalaräometers gemessen. In diese Flüssigkeit lässt man einen Tropfen Blut fallen und beobachtet, ob er steigt, d. h. spezifisch leichter ist oder ob er fällt, d. h. schwerer ist. Im ersteren Falle giesst man etwas Benzol, im letzteren Falle Chloroform hinzu, lässt die Flüssigkeiten durch vorsichtiges Neigen des Gefässes sich innig vermischen und bestimmt, wenn der Blutstropfen mitten in der Flüssigkeit ohne zu steigen oder zu sinken verharrt, durch Einsenken des Aräometers das spez. Gewicht. Bequemer ist es, wenn man mehrere Standgefässe mit verschieden schweren Mischungen nacheinander mit Blutstropfen beschickt.

Zur Einführung des Blutes dienen die auf S. 14 erwähnten Glasröhren.

Diese Methode ist für klinische Zwecke ausreichend exakt, falls die Ausführung schnell geschieht, so dass der Blutstropfen kein Wasser abgiebt (Zuntz) und eignet sich wegen ihrer Einfachheit besonders auch für Untersuchungen auf Reisen.

c) Weniger zweckmässig sind die Methoden, bei welchen der Blutstropfen in andere Flüssigkeitsmischungen, z. B. Wasser und Glycerin (Roy) oder Gummi-Arabicumlösung von verschiedener Konzentration (Fano) gebracht und im übrigen wie bei b) verfahren wird.

Das normale spez. Gewicht des Blutes ist:
bei Männern 1055—1060,
„ Frauen 1050—1055.

3. Die Bestimmung des Trockenrückstandes.

Seit den ersten modernen Blutuntersuchungen als zweifellos exakte Methode zur Ermittelung des Wassergehaltes, d. h. der Konzentration des Blutes in Gebrauch.

Man fängt für diese Bestimmungen ein nicht zu kleines Quantum Blut, am besten ca. 2 ccm aus der punktierten Vene in einem Wiegeschälchen mit gut schliessendem Deckel auf und bestimmt nach sorgfältigem Abwischen der Aussenwände des Gläschens das Gewicht des feuchten Blutes.

Nunmehr wird nach Abhebung des Deckels das Blut im Va-

cuum über Schwefelsäure oder Chlorcalcium getrocknet, bis die getrocknete Masse glashart vom Boden des Gefässes abspringt, was bei 1—2 ccm Blut etwa 2—3 Tage zu dauern pflegt. Das trockene Blut wird gewogen und seine prozentische Menge berechnet.

Man kann das Blut auch bei 67° C. im Brutschrank trocknen (Stintzing), doch ist diese Methode nicht völlig exakt.

Die Trockenrückstände betragen beim Gesunden 21—22%.

4. Stickstoffbestimmungen.

Zur Ermittelung der Konzentration des Blutes kann endlich noch die quantitative Analyse der Eiweisskörper herangezogen werden, indem man den im Blute enthaltenen Stickstoff ermittelt und durch Multiplikation mit 6,25 nach Analogie anderer Eiweissbestimmungen den Eiweissgehalt berechnet.

Hierbei ist zu berücksichtigen (v. Jaksch), dass geringe Mengen von N im Blute nicht auf Eiweisskörper, sondern auf Extraktivstoffe zu beziehen sind. Die Analysen sind daher immer nur mit Vorsicht zu verwerten, da bei manchen pathologischen Zuständen, z. B. Nierenkrankheiten der Extraktiv-N in unkontrollierbarer Weise gesteigert sein kann.

Die Bestimmung selbst geschieht derart, dass man eine kleine Quantität Blut im Wiegegläschen abwiegt und sorgfältig mit destilliertem Wasser in einen Kolben spült, worauf der Nachweis des N in der von Kjeldahl angegebenen Weise erfolgt. Als noch zweckmässiger habe ich es gefunden, kleine Düten von Staniol mit etwas getrocknetem Sande abzuwiegen, dann in den Sand einige Tropfen Blut fallen zu lassen, worauf die Stanioldüte geschlossen und sofort das Gewicht des Blutes bestimmt wird. Die Düte wird dann in gewöhnlicher Weise im Kjeldahl-Kolben verbrannt.

Der N-Gehalt beim Gesunden beträgt: 3,5—3,7%.

5. Hämoglobinometrie.

Die Hämoglobinmesser älterer Konstruktion beruhen auf Vergleichung der Färbekraft des in bestimmter Proportion verdünnten Blutes mit empirisch hergestellten Normalfarben, die einem bestimmten Hb-Gehalt entsprechen. Die Fehler dieser Apparate sind erheblich und im Einzelfalle schwer kontrollierbar. Bessere Resultate geben die Methoden, bei welchen das Hb vor der Untersuchung in eine CO-Verbindung übergeführt und mit geaichten CO-Hb-Lösungen verglichen wird.

Der Hb-Gehalt beim Gesunden beträgt: 13—14%.

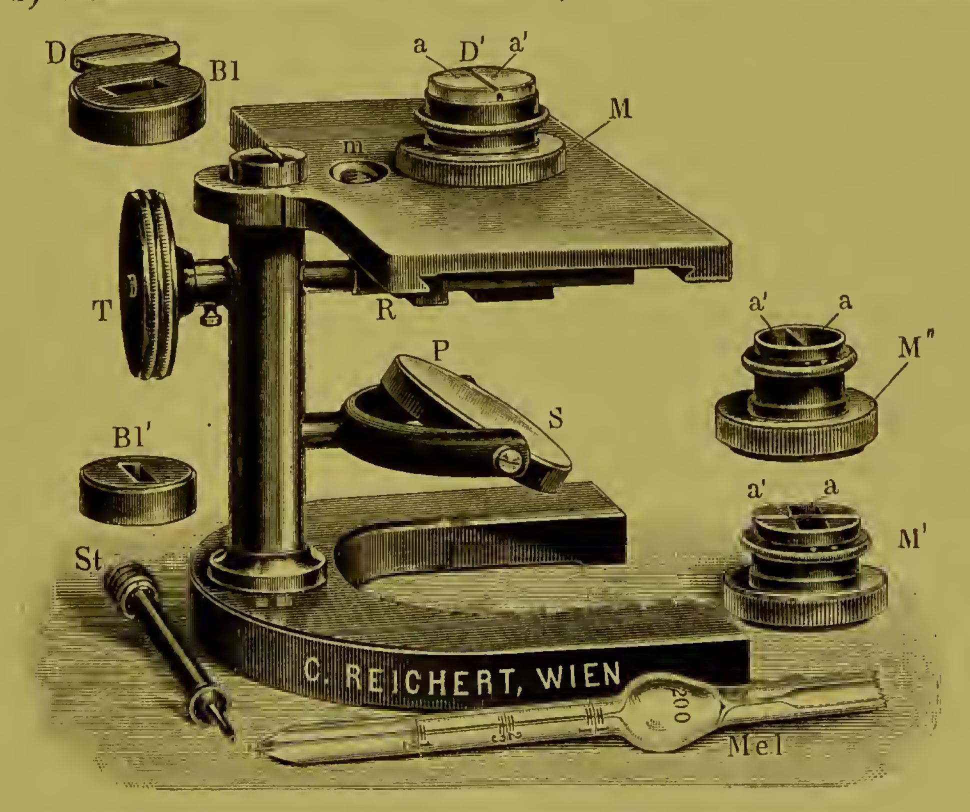
a) Bei dem **Hämoglobinometer von Gowers***) wird eine kleine Quantität Blut (0,02 ccm) mit einer Pipette angesaugt, in ein graduiertes cylindrisches Gläschen eingeblasen, mit destilliertem Wasser die Pipette ausgespült und das Blut soweit verdünnt, bis seine Farbe genau derjenigen entspricht, welche die in einem zugeschmolzenen Gläschen enthaltene Karminpikrokarmingelatine (= 1 % wässeriger Lösung normalen Blutes) zeigt. An der Skala des Mischgläschens kann man ohne weiteres in Prozenten den Hb-Gehalt des Blutes ablesen.



Hämoglobinometer von Gowers.

Die Farbvergleichung geschieht, indem man die Gläschen gegen einen weissen Hintergrund betrachtet.

b) **Das Fleischl'sche Hämometer, von Miescher verbessert,**



v. Fleischls Hämometer, von Miescher verbessert.

besteht aus den zur Blutentnahme nötigen Apparaten und einem nach Art des Thoma-Zeissschen Melangeurs konstruierten Misch-

*) Für die praktische Benutzung dieses und der folgenden Apparate werden von den Fabrikanten genaue Gebrauchsanweisungen beim Bezuge der Apparate mitgeliefert, sodass hier nur das Prinzip ihrer Funktion erläutert wird.

gefäss, in welchem das Blut auf $^1/_{200}$, $^1/_{300}$, $^1/_{400}$ verdünnt werden kann. Als Verdünnungsflüssigkeit dient eine filtrierte $1\,^0/_{00}$ Na. carbon.-Lösung.

Die zweiteilige Untersuchungskammer des Apparates wird in der einen Hälfte mit reinem Wasser, in der anderen mit der Blutlösung beschickt, so dass beiderseits ein konvexer Meniscus über der Oberfläche überragt und hiernach das Deckglas in der Richtung der Kammerscheidewand unter Vermeidung von Luftbläschen auf die Oberfläche der Kammer geschoben.

Die Untersuchung an dem Instrumente soll in einem völlig dunklen Raume, bei Tage in einer Dunkelkammer unter Benutzung eines Argand-Gasbrenners oder einer gewöhnlichen Petroleumlampe (nicht mit weissem Lichte) vorgenommen werden. Die Färbekraft wird an einem mit Gradeinteilung versehenen, verschieblichen Glaskeil gemessen, der eine Rotfärbung von verschiedener Intensität zeigt. Eine zweite kleinere Doppelkammer kann zur Kontrolle der grösseren ebenfalls beschickt und untersucht werden, worauf die Werte miteinander verglichen werden.

c) **Methode von F. und G. Hoppe-Seyler** (Zeitschr. f. physiol. Chemie 1896, B. 21, S. 461). Mit einer Kapillarpipette werden 0,04—0,06 ccm Blut aufgesaugt, in einen kleinen, fein geteilten Messcylinder geblasen und die Pipette mit Wasser nachgespült. Hierzu wird ein Tropfen schwacher Sodalösung gethan und in das Gemisch Kohlenoxyd oder Leuchtgas eingeleitet.

Ein gleichweiter Cylinder wird mit einer $0{,}2\,^0/_0$ CO-Hb-Lösung beschickt und beide Lösungen in einer Doppelpipette auf ihre Farbe verglichen. Zu der entnommenen Blutprobe wird so lange CO-Wasser hinzugesetzt, bis die Farbe der $0{,}2\,^0/_0$ Lösung gleich ist. Aus der Menge der zur Verdünnung nötigen Flüssigkeit wird der Hb-Gehalt berechnet. Wenn z. B. 0,06 ccm Blut mit 4,2 ccm Wasser verdünnt waren, so ist der Hb-Gehalt:

$$\text{in } 100 \text{ ccm} = \frac{0{,}002 \,.\, 4{,}2 \,.\, 100}{0{,}06} = 14.$$

d) **Die Methode von Nebelthau** (XV. Kongr. f. inn. Med., S. 557) beruht ebenfalls darauf, dass die Farbvergleichung des Blutes nach Überführung des Hb in CO-Hb mit einer Vergleichsflüssigkeit von CO-Hb ($0{,}01\,^0/_0$) geschieht. Zur Ausführung der Vergleichung benutzt Nebelthau das Wolffsche Kolorimeter, welches auf dem Prinzipe beruht, durch Veränderung der Flüssigkeitssäule in graduierten Cylindern bei durchfallendem Lichte Farbengleichheit herzustellen.

Der Apparat ist in sehr sinnreicher Weise mit Einrichtungen zur Einleitung von CO in die Mischungsflüssigkeiten versehen und

die Farbvergleichung geschicht in sehr exakter Weise mit Hilfe eines Fresnel'schen Prismenpaares und eines Fernrohres in einem runden Gesichtsfelde, welches durch die aneinanderstossenden Prismenkanten in zwei Hälften geteilt wird, deren jede von je einem Cylinder ihr Licht erhält.

e) Bei der Methode von Zangemeister (Zeitschr. f. Biol. B. 33. S. 72.) wird das zu untersuchende Blut lackfarben gemacht und in Methämoglobin übergeführt durch Zusatz von einigen Tropfen Äther und konzentrierter Kalinitritlösung zu dem in Wasser gelöstem Blute. Die Farbvergleichung geschieht mit einer Normal-Methämoglobinglycerinlösung.

f) Die spektrophotometrische Methode von Vierordt und Hüfner (Vierordt, Die Anwendung des Spektralapparates zur Photometrie der Absorptionsspektren. Tübingen 1873. Hüfner, Zeitschr. f. physiol. Chemie, B. I, S. 317). Das Prinzip ist folgendes: Die Eintrittsstelle eines Spektralapparates ist in eine obere und untere Hälfte geteilt, deren jede isoliert durch ein exakt gearbeitetes Schraubengewinde mit Gradeinteilung verengert und erweitert werden kann. Nachdem beide Hälften des Spaltes gleichweit eingestellt sind, wird vor die eine Hälfte in einem planparallelen Trögchen eine auf 1 : 100 oder 1 : 200 verdünnte Blutlösung gebracht, während die andere Hälfte frei bleibt. Man schaltet nunmehr mittels eines vertikalen Diaphragmas den grössten Teil des Spektrums aus und vergleicht die Absorptionsstreifen des Hämoglobin, indem man durch Drehung der Mikrometerschraube die Hälfte des reinen Spektrum auf denselben Grad von Lichtstärke reduziert, den das Absorptionsband des Hb zeigt.

Aus der abzulesenden Zahl der für die Einstellung nötigen Schraubendrehungen gewinnt man bei richtiger Konstruktion des Apparates ohne weiteres den Prozentgehalt an relativer Lichtstärke. Die negativen Logarithmen dieser Lichtstärkewerte bilden die sog. Extinktionskoeffizienten und die letzteren verhalten sich proportional dem Hb-Gehalt des untersuchten Blutes.

Nach Hüfner lassen sich aus diesen relativen Werten die absoluten Hb-Mengen berechnen, wenn man die von ihm ermittelte Konstante $A = 0{,}1154$ nimmt und die absolute Menge (c) berechnet aus $c = Aa$, wobei A der ermittelte Extinktionskoëffizient ist.

g) Methode von Jolles zur Bestimmung des Hb-Gehaltes aus dem Eisen des Blutes (Pflügers Arch., B. 65, 1897, S. 589). Das Prinzip ist folgendes: 0,05 ccm Blut werden mit einer Pipette angesaugt, auf den Boden eines Platintiegels geblasen, die Pipette mit Wasser nachgespült. Diese Masse wird zuerst eingedampft und dann verascht. Die Asche wird mit 0,1 g gepulverten, wasserfreien sauren schwefelsauren Kaliums geschmolzen und 1—2 Minuten bei

verstärkter Flamme erhitzt. Mit heissem destillierten Wasser wird der Platintiegel ausgespült und die Masse in ein Glasgefäss übergespült. Die kolorimetrische Vergleichung dieser Mischung geschieht, nachdem der Lösung 1 ccm Salzsäurelösung (1 : 3) und 4 ccm Rhodanammoniumlösung (7,5 : 100) zugesetzt sind, mit einer gleichartig behandelten Lösung einer bekannten Fe-Menge in einem zweiten gleichgrossen Glasgefässe.

Diese Methode ist für klinische Zwecke vom Autor im Detail ausgearbeitet worden und die hierzu nötigen Apparate etc. werden in kompendiöser Zusammenstellung als **Ferrometer** von Reichert in Wien geliefert.



Ferrometer nach Jolles.

Der Hb-Gehalt wird aus dem Eisengehalt in Prozenten nach der Formel $\frac{100\,m}{0,42}$ berechnet, wobei m die prozentische Eisenmenge bedeutet.

In ähnlicher Weise bestimmt Mackie (Lancet 1898, Jan. 22) den Eisengehalt eines Blutstropfens durch Farbvergleichung, indem er nach Veraschung des Blutes und Lösung in Salzsäure die durch Zusatz von Kalium thiocyanicum entstehende Rotfärbung mit einer gleich behandelten Normal-Eisenlösung vergleicht.

6. Die Untersuchungen des Blutserum.

Die Gewinnung der intercellulären Flüssigkeit des Blutes kann in verschiedener Weise bewirkt werden:

Für klinische Zwecke dürfte **die Gewinnung von Plasma** kaum in Frage kommen, es wird sich vielmehr vorzugsweise darum handeln, das Blutserum, d. h. Plasma minus Fibrin, zu erhalten.

Zur Darstellung von Plasma muss man das Blut unter Bedingungen auffangen, welche eine Gerinnung desselben verhindern. Dies geschieht nach Landois, indem man das Blut auf 0° C. abkühlt und zu diesem Zweeke direkt aus der Ader in Messcylinder fliessen lässt, welche in Kältemischungen stehen.

Durch Zusatz von Alkalien, besonders Ammoniak, ferner von konzentrierter Lösung von Natriumsulfat, besonders aber durch geringe Mengen (0,002 : 1 ccm Blut) von Natriumoxalat wird ebenfalls die Gerinnung aufgehoben, die Blutkörperchen senken sich allmählich zu Boden und über diesem Blutkörperchensediment lässt sich das klare Plasma leicht mit Pipetten abheben.

Immer wird man berücksichtigen müssen, ob und wie stark durch Zusatz derartiger Chemikalien die Zusammensetzung des abgeschiedenen Plasma nicht nur in Bezug auf den Gehalt an Salzen, sondern auch an Wasser alteriert wird.

Im Tierexperiment kann man die Gerinnung des Blutes dadurch aufheben, dass man dem Tiere ca. 0,3 g Pepton pro Kilo Körpergewicht intravenös einspritzt, wodurch für ca. 1 Stunde die Gerinnbarkeit aufgehoben wird. Nach den Untersuchungen von Heidenhain dürfte aber auch ein derartig behandeltes Blut Änderungen der Plasmabestandteile gegen die Norm aufweisen.

Blutserum erhält man, indem man Blut gerinnen lässt und nach 24—48 Stunden die klare gelbliche Flüssigkeit mit Pipetten vom Coagulum abhebt, wobei man achtgeben muss, dass keine hämoglobinhaltigen Partikelchen des Blutkuchens mit abgesaugt werden.

Kleine Quantitäten Serum erhält man leicht in Kapillarröhrchen, deren Enden man nach 24stündigem ruhigen Stehenlassen abbricht, worauf das Koagulum vorsichtig aus der einen Öffnung mit Fingern oder Pincette herausgezogen wird, sodass das Serum in dem Röhrchen zurückbleibt.

Zur schnellen Gewinnung von Serum empfiehlt es sich, das frisch entnommene Blut, bevor Gerinnung eingetreten ist, etwa $^1/_2$ Stunde lang zu centrifugieren, ohne die Zusammensetzung des Blutes durch Zusatz chemischer Stoffe zu alterieren. Man erhält dann über der roten Blutkörperchenmasse eine gallertartige grauweisse Masse, welche aus Fibrin und Serum besteht und aus der leicht einige Tropfen Serum zu gewinnen sind, die nach eigenen Untersuchungen die gleiche Konzentration wie das vom geronnenen Blute gewonnene Serum zeigen.

Bei allen auf die Gewinnung von klarem, d. h. nicht mit

Hämoglobin vermischten Serum gerichteten Manipulationen muss man äusserst behutsam verfahren, da durch Erschütterung und Schütteln der Gefässe, zumal bevor die Gerinnung eingetreten ist, ungemein leicht Blutfarbstoff in das Serum übertritt. Bei manchen Krankheiten ist das Hämoglobin anscheinend besonders locker an die Zellen gebunden, ebenso erhält man bei Hunden und Kaninchen leicht Hb-Übertritt in das Serum, und speziell möchte ich darauf aufmerksam machen, dass beim Centrifugieren durch Erschütterungen infolge unsanften Ganges der Centrifuge leicht Hb in das Serum resp. Fibrin übertritt.

Hämoglobinämie nennt man den Zustand, in welchem gelöstes Hb im lebenden Blute cirkuliert. Man darf eine wirkliche Hämoglobinämie aber nur diagnostizieren, wenn bei der Entnahme und dem Gerinnenlassen des Blutes in so sorgfältiger Weise vorgegangen ist, dass ein artifizieller Hb-Austritt mit Sicherheit auszuschliessen ist. In Fällen schwerer Hämoglobinämie sieht das Serum makroskopisch rubinrot, oder wenn es sich um Methämoglobinämie handelt, sepiabraun aus. Spuren von Hb müssen spektroskopisch nachgewiesen werden.

Zu quantitativen Bestimmungen der Zusammensetzung des Blutserum genügen für klinische Zwecke:

a) **Die Bestimmung des spez. Gewichtes**, entweder nach der Methode von Schmaltz im Kapillarpyknometer oder der Methode von Hammerschlag durch Einbringen eines Tropfens in eine Chloroformbenzolmischung (s. S. 24. 25.).

Dasselbe ist beim Gesunden 1028—1030.

b) **Die Bestimmung des Trockenrückstandes** zur Ermittelung des Wassergehaltes (s. S. 25).

Beim Gesunden 10,0—10,5 %.

c) **Die Ermittelung des Stickstoffgehaltes nach Kjeldahl**, wobei dieselben Momente wie beim ganzen Blute zu berücksichtigen sind (s. S. 26).

Beim Gesunden 1,2—1,4 %.

7. Das Volumen der roten Blutkörperchen und des Serum.

Für die Bestimmung der Volumverhältnisse von Blutzellen und Blutflüssigkeit muss man berücksichtigen, dass wir keinen sicheren Anhaltepunkt haben, aus dem das quantitative Verhältnis des Plasma während der Cirkulation des Blutes im Lebenden beurteilt werden könnte, da es unbekannt ist, wieviel von der Flüssigkeit frei, wieviel in den Zellen aufgespeichert cirkuliert.

Auch die vom Blute ausserhalb des Gefässsystems gewonnene

Menge Serum ist nur mit gewissem Vorbehalt quantitativ zu verwerten, denn es hängt von der Methodik ab, wieviel Serum abgeschieden wird. Es ist hiernach leicht verständlich, dass die quantitativen Verhältnisse von Zellen zu Serum bei gesunden Menschen von den einzelnen Autoren ziemlich stark abweichend angegeben werden und es wird sich für klinische Zwecke einstweilen auch hier darum handeln müssen, Vergleichswerte bei Anwendung einer und derselben Methodik zu sammeln und nicht die Resultate einer Untersuchung mit der Methode A ohne weiteres solchen, die mittels der Methode B gewonnen sind, gegenüberzustellen. Besonders unsicher sind die Methoden, bei welchen das Blut mit Salzen in Substanz oder Lösung versetzt wird, um die Trennung von roten Blutkörperchen und Serum zu erleichtern, denn die Salze verhalten sich keineswegs indifferent gegenüber der Abscheidung des Serum und ihr Einfluss ist im Einzelfalle schwer mit Sicherheit zu bestimmen.

Das Volumen der r. Bl. beträgt beim Gesunden 40—50 %.

a) Bei dem **Hämatokrit von Hedin und Gärtner** werden kleine Quantitäten Blut in einer Kapillarröhre aufgesaugt, mit einer bestimmten Menge von Kaliumbichromatlösung (2,5 % Daland) verdünnt, centrifugiert und die Sedimentmasse an einer Skala abgelesen.

b) Bei der **spontanen Sedimentierung nach Biernacki** werden einige Kubikcentimeter Blut mit oxalsaurem Natron in Pulverform und zwar zu 0,2 %, d. h. pro Kubikcentimeter Blut mit 0,002 g Natriumoxalat gemischt und in einem kleinen, graduierten Gläschen sich selbst überlassen. Nach 24—48 Stunden haben sich die roten Blutkörperchen zu Boden gesenkt, ihre Säule wird, sobald keine weitere Senkung eintritt, gemessen und mit der darüber befindlichen Flüssigkeitsschicht verglichen. Biernacki berücksichtigt bei seiner Methode aber nicht lediglich das Sedimentvolumen, sondern hält auch die Sedimentierungsgeschwindigkeit und die Kurve der Sedimentierung für klinisch bedeutungsvoll. (Von Ottfr. Müller neuerdings bestätigt.)

c) Bei dem **Bleibtreuschen Verfahren** werden 2 oder mehrere Portionen Blut in bestimmten Verhältnissen mit 0,6prozentiger NaCl-Lösung versetzt und in der hiernach abgeschiedenen Flüssigkeit der N-Gehalt nach Kjeldahl bestimmt. Durch Vergleichung des N-Gehaltes von verschieden verdünnten Sera kann man nach einer in Pflügers Archiv, Bd. 51, S. 151 entwickelten Formel indirekt das Volumen des Serum bestimmen, wobei allerdings die Voraussetzung gemacht ist, dass die zugesetzte NaCl-Lösung den gleichen osmotischen Druck besitzt wie das zu untersuchende Blut.

d) Das einfachste Verfahren besteht nach eigener Erfahrung

darin, einige Kubikcentimeter Blut durch Venenpunktion zu gewinnen und in einem graduierten Gläschen etwa $^1/_2$ Stunde lang zu centrifugieren. Bedingung ist, dass das Blut schnell ausfliesst, sodass die Centrifugiernng vor eingetretener Gerinnung beginnt. Die Centrifuge muss ohne Stossen und Rütteln glatt arbeiten. An der Gradeinteilung kann man nach beendeter Centrifugierung ohne weiteres das Volumen von roten Blutkörperchen und Serum ablesen.

e) Eigene Methode. Nach ausgeführter Venenpunktion wird an einer kleinen Quantität Blut das spez. Gewicht bestimmt. Eine andere kleine Quantität (es genügen 2—3 ccm) wird centrifugiert und das spez. Gewicht des oben abgesetzten klaren Serum, sowie der mit einer Pipette vom Boden des Centrifugiergläschens angesaugten Blutkörperchenmasse bestimmt. Aus diesen drei bekannten Grössen:

1. Spez. Gewicht des ganzen Blutes $= D_1$
2. „ „ „ Serum $= D_2$
3. „ „ der roten Blutkörperchen $= D_3$

wird der Prozentgehalt des Blutes an Serum berechnet nach der Formel:

$$x = \frac{100\,(D_3 - D_1)}{D_3 - D_2}.$$

Nehmen wir als Durchschnittswerte für:

$D_1 : 1056$
$D_2 : 1030$
$D_3 : 1082$,

so ergiebt sich nach dieser Formel: $x = \frac{100 . 26}{52} = 50\,^0/_0$ Serum.

8. Spektroskopische Untersuchungen.

Für den Nachweis qualitativer Veränderungen des Blutfarbstoffes, sowie für den Nachweis von Blutspuren im Harn und anderen Flüssigkeiten genügt ein sog. Taschenspektroskop, während für quantitative Hb-Bestimmungen (s. S. 29) ein grösserer Apparat nötig ist.

Die sichere Erkennung der Absorptionsstreifen erfordert für zweifelhafte Verhältnisse viel Übung und es ist, wie L. Lewin neuerdings mit Recht hervorhebt, von grosser Wichtigkeit, die einzelnen Teile des Spektrum bei möglichst engem Spalt zu untersuchen, da schwache Absorptionsbänder bei starkem Lichteinfall leicht übersehen werden können. Das Fernrohr muss genau eingestellt werden, und Lewin empfiehlt, die Blutuntersuchung zunächst immer an einer so dicken Schicht zu beginnen, dass nur Rot und Orange durchgelassen werden, damit zunächst mit voller

Sicherheit festgestellt wird, ob eine Absorption in Rot vorhanden ist. Weiterhin verdünnt man das Blut mit destilliertem Wasser auf 0,5—1,0 : 100 und untersucht es am besten in planparallelen Gläschen, die mit einer Klammer vor dem Apparate befestigt werden.

a) **Oxyhämoglobin** besitzt zwei Absorptionsspektra zwischen den Fraunhoferschen Linien D und E, von denen das nach Rot zu gelegene etwas schmäler und intensiver ist.

b) **Reduziertes Hämoglobin**, welches z. B. entsteht, wenn zu Oxyhämoglobin altes Schwefelammonium zugesetzt wird, zeigt an Stelle der beiden erwähnten Streifen einen einzigen breiten Streifen zwischen D und E, der von besonderer Bedeutung resp. Entscheidung ist bei dem Nachweise von:

c) **Kohlenoxyd-Hämoglobin.** Diese häufige Blutvergiftung dokumentiert sich makroskopisch in der hellroten Färbung des Blutes beim Lebenden wie in der Leiche, doch kommt eine solche hellrote Färbung auch bei anderen Vergiftungen vor. Spektroskopisch erscheinen zwei Absorptionsstreifen, die von denen des Oxyhämoglobin zunächst kaum zu unterscheiden sind. Setzt man aber dem CO-Blute Schwefelammonium zu, so tritt nicht das Spektrum des reduzierten Hb auf, sondern die beiden Bänder bleiben erhalten. Eine Schwierigkeit kann in diesen sonst einfachen Verhältnissen dadurch entstehen, dass neben dem CO-Hb stets mehr oder weniger normales O_2-Hb bei jeder Kohlendunstvergiftung vorhanden ist, sodass der Zwischenraum zwischen den beiden Spektren keineswegs vollkommen frei ist, sondern eben eine geringe Reduktion und also auch ein Reduktionsspektrum eintritt. Diese Schwierigkeit, auf welche L. Lewin besonders aufmerksam macht, wird meiner Ansicht nach am leichtesten dadurch überwunden, dass man neben dem auf Kohlendunstvergiftung verdächtigen Blute eine Probe normalen Blutes in ganz gleicher Weise behandelt und die Spektra vergleicht.

d) **Methämoglobin** entsteht unter sehr zahlreichen Bedingungen im Lebenden durch Einwirkung blutkörperchenzerstörender Gifte und erscheint auch im Harn bei konsekutiver Hämoglobinurie. Die Farbe des Methämoglobinblutes ähnelt dem Sepiabraun, sodass man Methämoglobin z. B. im klaren Serum und im Urin meist sehr leicht makroskopisch erkennen kann.

Das Spektrum des Methämoglobin ist dadurch ausgezeichnet, dass ein Absorptionsstreifen in der Nähe der Fraunhoferschen Linie F, ein anderer in Rot resp. Orange erscheint, und dass bei Zusatz von Schwefelammonium das Spektrum des reduzierten Hb erscheint.

e) **Hämatin**, das eisenhaltige Produkt, welche bei Hb-Zerfall

gebildet wird, kommt vor als „Hämatin in saurer Lösung" oder „Hämatin in alkalischer Lösung".

Die Absorptionsstreifen des Hämatin in saurer Lösung sind fast die gleichen, wie die des Methämoglobins in Rot, ferner zwischen den Linien D und E und bei F gelegen.

Das Hämatin in alkalischer Lösung zeigt einen Absorptionsstreifen der annähernd mit dem einen Streifen des O_2-Hb zusammenfällt, nur etwas mehr nach Rot gerückt ist.

9. Blutkrystalle.

Die Darstellung der Teichmannschen Häminkrystalle ist für die Erkennung kleinster Blutquantitäten nicht nur für forensische Zwecke von grosser Wichtigkeit, sondern ist klinisch z. B. für den sicheren Nachweis von Blut in den Fäces, welches aus dem Magen oder den obersten Darmpartien stammt, unentbehrlich.

Man lässt das zu untersuchende Material auf einem Objektträger unter Erwärmung antrocknen, bringt einen grossen Tropfen Eisessig und ein Körnchen Kochsalz auf die Masse (bei Fäcesuntersuchungen ist das Kochsalz nicht nötig) dampft über der Flamme ohne zu starke Erhitzung ein und untersucht nach Aufbringung eines Tropfens Wasser und eines Deckglases bei mittelstarker Vergrösserung.

Die Häminkrystalle erscheinen meist haufenweise in grosser Menge als kleinste braune Rhomben mit spitzen Enden, manchmal auch als Büschelchen oder in Stäbchenform.

10. Alkalescenzbestimmungen.

Die Bestimmung der Alkalimengen im Blute stösst auf grosse Schwierigkeiten. Der Kohlensäuregehalt im Blute wurde früher zu alkalimetrischen Untersuchungen bestimmt, in der Annahme, dass der grösste Teil der CO_2 im Blute an Alkalien gebunden sei und dass also die Menge der gefundenen CO_2 in einem, wenngleich auch nicht ganz sicheren direkten Verhältnisse zur Menge des vorhandenen Alkali stehe. Diese Annahme hat sich indes aus verschiedenen Gründen als unhaltbar erwiesen, und da ausserdem die Ausführung der CO_2-Bestimmungen mit Schwierigkeiten technischer Art verbunden ist, so ist diese Methode für klinische Zwecke verlassen worden.

Titrimetrische Methoden wurden von Zuntz und Landois zur Bestimmung der Blutalkalescenz eingeführt.

a) Nach Landois wird die Titration für praktisch-klinische Zwecke in der Weise ausgeführt, dass kleine abgemessene Quantitäten Blut in Gemische von konzentrierter neutraler Natriumsulfat-

lösung mit Weinsäurelösungen von verschiedener Verdünnung gebracht werden, worauf mit Lakmuspapier geprüft wird, welches Gemisch durch eine bestimmte Quantität Blut neutralisiert wird. (Die genaue Technik s. Landois, Physiologie, S. 16).

b) **Von Zuntz und Löwy** wurde nachgewiesen, dass bei den Titrationen nach der älteren Methode nicht das ganze im Blute enthaltene Alkali zur Bestimmung komme, dass besonders ein Teil der in den roten Blutkörperchen enthaltenen alkalischen Werte unberücksichtigt bleibt und die mit den älteren Methoden ermittelten Werte daher zu niedrige Zahlen angeben.

Nach Löwy muss das Blut lackfarbig gemacht werden durch Auflösung der roten Blutkörperchen, um das in diesen enthaltene Alkali für die Titrierung zugänglich zu erhalten. Zu diesem Zweck lässt Löwy in ein 50 ccm fassendes, an seinem Halsende graduiertes Gläschen, welches 45 ccm oxalsaures Ammon enthält, Blut einlaufen, notiert an den Marken das Volumen des Blutes und mischt die Oxalatlösung mit dem Blut, welches hierbei lackfarbig wird und nicht gerinnt. 5 ccm dieses Gemisches werden mit $^1/_{25}$ Normalweinsäurelösung titriert und die Reaktion durch Aufbringen eines Tropfens auf Lakmoidpapier geprüft. Letzteres wird durch Tränken von Kopierpapier mit neutralisierter alkoholischer Lakmoidlösung hergestellt. Die Randzone des durch Diffusion im Papier sich verteilenden Tropfens zeigt den Farbumschlag am deutlichsten, doch gehört bei diesen, wie auch den im folgenden erwähnten Titrationen eine gewisse Übung und Erfahrung zum Erkennen des richtigen Momentes des Farbumschlages.



Alkalimeter von Engel.

e) **Der Blutalkalimeter von C. S. Engel** stellt eine Modifikation des vorhergehenden Verfahrens dar und ist für Untersuchungen kleiner Quantitäten bestimmt. Nach dem Autor ist das Verfahren folgendes:

Ein grosser Blutstropfen wird in die Kapillarpipette bis zur Marke 0,05 hineingesogen, dann destilliertes Wasser nachgezogen, bis die Marke 5,0 erreicht ist. Nachdem leicht geschüttelt worden, wird das nun lackfarben gewordene Blut in das beigegebene Gläschen gebracht. Zur Titrierung wird in die Burette, die an dem anzuschraubenden Burettenhalter zu befestigen ist, eine $\frac{1}{75}$ Normalweinsäure gebracht, das ist 1 Gramm Acid. tartaricum auf 1 Liter Aq. dest. Es wird nun tropfenweise die Weinsäure so lange in die

Blutlösung hineinfallen gelassen, bis ein auf das Lakmoidpapier gebrachter Blutstropfen an seinem Rande einen deutlichen roten Kreis zurückgelassen hat. Diese Endreaktion tritt bei normalem Blut etwa beim zehnten Weinsäuretropfen (etwa 0,5 ccm) ein. Die Blutmischung darf nicht mit dem Stab auf das Papier **gewischt** werden.

Berechnung. Angenommen, es sind 0,5 ccm Weinsäure zum Neutralisieren von 0,05 ccm Blut verbraucht worden, so werden für 100 ccm Blut 1000 ccm $\frac{1}{75}$ Normalweinsäure gebraucht. Da das Äquivalentgewicht der Weinsäure $\left(\frac{C\,4\,H\,6\,O\,6}{2}\right) = 75$, das des Natriumhydrats (NaOH) = 40 beträgt, so sättigt ein Liter Wasser, in welchem 75 gr Weinsäure gelöst sind, 40 gr NaOH, also ein Liter $\frac{1}{75}$ Normalweinsäure $\frac{40}{75}$ g oder 533 mg NaOH. Die Alkalescenz von 100 ccm Blut entspricht also 533 mg NaOH.

d) **Brandenburg***) rät von der Verwendung so kleiner Blutmengen wie bei dem Engelschen Verfahren ab. Er fängt in einem graduierten Cylinder von 30 ccm, welcher mit 10 ccm 0,2 % Ammonoxalatlösung beschickt ist, 5—8 ccm Blut aus der Vene auf, füllt auf 30 ccm auf und titriert gegen Lakmoidpapier mit $^1/_{10}$ Normalweinsäurelösung.

Mit Recht verlangt Brandenburg, dass gleichzeitig die Konzentration des Blutes, am besten durch N-Analyse, bestimmt wird, da durch den Eiweissgehalt des Blutes die Alkalescenz wesentlich beeinflusst wird.

e) **Bei der Methode von Schultz-Schultzenstein** wird mittels einer Kapillarröhre (vom Fleischlschen Hämometer) eine sehr geringe Quantität Blut (0,0075 g) aufgesogen, mit destilliertem Wasser und einer bestimmten Quantität von $^1/_{100}$ Normalschwefelsäure übersäuert. Dieser Mischung wird ein äusserst empfindlicher Farbstoff, Erythrosin (Jodeosin) als Indikator zugesetzt und mit $^1/_{600}$ Normalkalilauge titriert, bis eine deutliche Rotfärbung erkennbar ist. (Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1894, S. 801.)

II. Die Widerstandsfähigkeit der roten Blutkörperchen.

Zur Bestimmung der Resistenz der r. Bl. dient in erster Linie die Messung der osmotischen Spannkraft der Blutflüssigkeit nach der Methode von Hamburger.

Nach Hamburger nennt man „isotonisch“ eine Salzlösung, welche die gleiche wasseranziehende Kraft wie das zu untersuchende Blut hat. Ist die Salzlösung konzentrierter, so nennt man sie „hyperisotonisch“, und „hypisotonisch“, wenn sie dünner ist. Mikroskopisch zeigen die r. Bl. in hyperisotonischen Salzlösungen Schrumpfungserscheinungen und Formveränderungen wie Poikilocytose, in hypisotonischen Lösungen quellen

---

*) Brandenburg. Zeitschr. f. klin. Med. B. 36, 1899, H. 3/4.

sie und geben Hämoglobin ab, in isotonischen Lösungen bleiben sie unverändert.

1. **Die Hamburgersche Methode** erfordert grössere Mengen Blut, ist demgemäss für klinische Zwecke nicht immer anwendbar. In einer Reihe von Reagiergläsern versetzt man Na Cl-Lösungen verschiedener Konzentration mit ein paar Tropfen defibrinierten Blutes, schüttelt, lässt die Blutkörperchen sich senken und notiert, in welchem Glase die Flüssigkeit einen Stich ins Rote hat.

Gleichzeitig werden einige Male je 5 ccm des zu untersuchenden Serum mit verschiedenen Quantitäten Wasser versetzt, dazu ein paar Tropfen des defibrinierten Blutes gethan und beobachtet, wo zuerst ein Stich ins Rote auftritt. Geben z. B. die roten Blutkörperchen in 0,61 % Na Cl-Lösung Farbstoff ab und ebenso in 5 ccm Serum + 2,6 ccm Wasser, so hat das unverdünnte Serum eine wasseranziehende Kraft = einer Na Cl-Lösung von $\frac{5 + 2,6}{5} \times 0,61 = \mathbf{0,92\,\%}$.

2. **Nach v. Limbeck** genügt es für klinische Zwecke, eine Anzahl kleiner Gläschen mit je 1 ccm verschieden starker Salzlösungen zu beschicken und in jedes einen Tropfen des frischen zu untersuchenden Blutes fallen zu lassen. Durch Schütteln mit einer Glasperle wird das Blut defibriniert. Nachdem sich die Blutkörperchen gesenkt, zeigt dasjenige Gläschen, in welchem eben kein Rot in der überstehenden Flüssigkeit zu erkennen ist, die Isotoniegrenze an.

3. **Nach Landois** wird ein abgemessenes Blutströpfchen (in der Mischpipette des Zählapparates von Zeiss bis Marke 1) mit der gleichen Menge 3 % NaCl-Lösung gemischt und so lange mit dest. Wasser gemischt, bis bei mikroskopischer Betrachtung sich alle roten Blutkörperchen gelöst haben.

4. Die ältere Methode Lakers, durch die Entladungsschläge einer Leydener Flasche das Blut lackfarbig zu machen und aus der Zahl der hierzu nötigen Schläge die Resistenz des Blutes zu messen, dürfte kaum für klinische Zwecke geeignet sein.

12. Jodreaktion im Blute.

Behandelt man lufttrockenes Blut mit Jod, so lassen sich bei Gesunden und besonders stark in gewissen Krankheiten braungefärbte kleine Schollen nachweisen, die besonders in der peripherischen Zone des Leukocytenprotoplasma, aber auch extracellulär vorkommen. Von Ehrlich und Gabritschewski wurden diese Gebilde ursprünglich für Glykogen gehalten, neuerdings nach Untersuchungen von Goldberger und Weiss ist es wahrschein-

licher geworden, dass es sich um pepton- oder albumosenartige Stoffe handelt.

Zur Untersuchung lässt man das auf dem Deckglas ausgestrichene Blut an der Luft trocknen und bettet es dann ohne weitere Fixation in einem Tropfen einer Jodgummilösung ein:

Jod. pur.	1,0
Kal. jodat.	3,0
Aqu. destill.	100,0
Gummi arab. im Überschuss.	

Ehrlich empfiehlt, das Präparat in ein geschlossenes, Jodkrystalle enthaltendes Gefäss zu legen, in dem es sich in wenig Minuten dunkelbraun färbt und es dann mit einer gesättigten Lävuloselösung einzubetten.

13. Fett im Blute.

Zum qualitativen Nachweis von Fett kann man dasselbe makroskopisch am deutlichsten dadurch sichtbar machen, dass man das Blut in dünnwandigen Kapillarröhrchen auffängt, und diese horizontal einige Zeit liegen lässt, worauf die oberste Schicht des Blutes wie mit Mehlstaub bestäubt, rahmartig aussieht. In vielen Fällen gelingt es übrigens, das Fett in Form allerfeinster Tröpfchen mittels Ölimmersion bei starker Abblendung im Plasma sichtbar zu machen. Nach Gumprecht kann man an Deckglas-Trockenpräparaten zunächst eine Färbung mit Osmiumsäure vornehmen, wodurch die Tröpfchen schwarz gefärbt werden, und nachher zum sicheren Nachweise der Fettnatur derselben diese gefärbten Tröpfchen durch Eintauchen des Deckglases in Äther, Xylol etc. zum Auflösen bringen.



Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig

